

Педиатрия

ID: 2013-11-2467-A-3056

Краткое сообщение

Евзерова Т.В., Чумакова Е.Л.

Значение определения минимальной резидуальной болезни у детей и пациентов до 25 лет с острым лимфобластным лейкозом в период проведения химиотерапии

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, кафедра гематологии

Резюме

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) является одной из самых курбельных злокачественных опухолей у детей и взрослых до 25 лет, поэтому достижение полных ремиссий, а так же безрецидивной выживаемости- RFS путем разработки методов выявления, клинической интерпритации и определения прогностической значимости минимальной резидуальной (остаточной) болезни (МРБ) при ОЛЛ является одной из актуальных задач современной гематологии.

Ключевые слова: гематология, дети, 3-х цветная проточная цитофлюориметрия

Цель: Определение практической значимости минимальной резидуальной болезни (МРБ) для прогнозирования возникновения рецидива, стратификация больных на группы риска, определение целесообразности и оптимального времени проведения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Задачи исследования: Определение минимальной резидуальной болезни (МРБ) у больных с первично установленным диагнозом: Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ).

Материалы и методы

Образцы костного мозга пациентов, находящихся на лечении в КПИГ СГМУ.

Определение остаточных опухолевых клеток методом 3-цветной проточной цитофлюориметрии с чувствительностью до 10^{-4} бластных клеток.

Результаты и обсуждение

Группа пациентов стандартного риска является гетерогенной по МРБ-статусу при наличии полной цитоморфологической ремиссии в различных временных точках оценки эффективности протокола ALL-MB-2002.

Сохранение МРБ после проведения индукционной терапии является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении развития рецидива заболевания. Определение прогностической значимости других временных точек нуждается в дальнейшем изучении.

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – злокачественное заболевание системы кроветворения, характеризующееся неконтролируемой пролиферацией незрелых лимфоидных клеток (лимфобластов).

ОЛЛ является самым распространенным злокачественным заболеванием в детском и юношеском возрасте, а так же является одной из самых курбельных злокачественных опухолей в детском и юношеском возрасте. Однако почти у 30% пациентов с ОЛЛ имеется риск возникновения рецидива. По данным многочисленных исследований, после завершения интенсивной полихимиотерапии (ПХТ) в костном мозге (КМ) пациентов с ОЛЛ может сохраняться до 1% остаточных лейкоэмических клеток, которые могут служить субстратом возникновения рецидива. Поэтому разработка методов выявления, клинической интерпритации и определения прогностической значимости минимальной резидуальной (остаточной) болезни (МРБ) при ОЛЛ является одной из актуальных задач современной гематологии.

О наличии МРБ судят на основании оценки aberrантных иммунофенотипических характеристик лейкоэмических клеток с использованием методов проточной цитофлюориметрии и полимеразной цепной реакции. Считается, что с применением указанных методов можно идентифицировать опухолевые клетки в количестве до 10^{-3} - 10^{-5} более чем у 90% больных ОЛЛ.

Результаты многих завершенных и продолжающихся клинических исследований по использованию различных методов контроля МРБ позволяют очертить практическую область применения данной технологии. Наиболее широким и перспективным направлением является использование данных МРБ для прогнозирования возникновения рецидива, стратификации больных на группы риска, а также для определения целесообразности и оптимального времени проведения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Для проведения исследований были выбраны 40 больных (30 детей и 10 взрослых до 25 лет) с первично установленным диагнозом ОЛЛ из предшественников В-клеток, поступивших на лечение в КПИГ СГМУ в период с 01.04.09г по 31.12.11г. Возраст пациентов от 3 до 25 лет. Иммунофенотип опухолевых клеток в КМ определяли методом проточной цитофлюориметрии. У 28 (70%) пациентов был выявлен common-вариант ОЛЛ, у остальных пациентов - про-В или пре-В, что в целом коррелирует с распространением В-линейного иммунофенотипа ОЛЛ в детском и юношеском возрасте.

Все пациенты получали лечение в соответствии с протоколом ALL-MB-2002.

Морфологическую группу (М-статус) пациентов с ОЛЛ определяли цитоморфологическим методом в зависимости от количества бластных клеток в КМ на 15-й и 36-й день ПХТ: менее 5%-M1-статус, 5-25% - M2-статус, более 25% - M3-статус.

Материалом для определения МРБ служили образцы КМ, забор которых проводили в 4 временных точках: 1-я – на момент постановки диагноза (день 0), 2-я – на 15-й день терапии, 3-я – на 36 день терапии, 4-я – перед началом поддерживающей терапии (ПТ).

Определение остаточных опухолевых клеток проводили методом 3-цветной проточной цитофлуориметрии с чувствительностью до 10^{-4} бластных клеток в центральных федеральных гематологических центрах.

Методологический подход определения МРБ заключался в анализе степени экспрессии определенных иммунофенотипических маркеров в каждой из временных точек в следующей комбинации: IgG1/IgG2a/CD19, CD45/CD14/CD19, CD20/CD10/CD19, CD58/CD10/CD19 (BD) на CD 19⁺-клетках КМ.

Результаты считали положительными (более 10^{-4} бластных клеток) при наличии 10 и более опухолевых клеток в виде кластера при учете от 300 000 до 500 000 ядросодержащих клеток КМ.

Эффективность ПХТ оценивали по количеству больных, у которых была достигнута ремиссия, частоте рецидивов, летальности, показателям безрецидивной выживаемости (relapse-free survival – RFS).

В результате проведенных исследований пациенты распределились в зависимости от группы риска следующим образом: группа стандартного риска (SRG) – 35 пациентов, что составляет 87% от всех исследуемых пациентов; группа промежуточного (ImRG) – 4 пациента – 11% и группа высокого риска (HRG) – 1 пациент – 2%. Результаты исследования КМ на 15-й день терапии были оценены у всех 40 пациентов. Остаточные опухолевые клетки в этой временной точке не обнаружены только у 3 (9,6%) больных группы стандартного риска (SRG), тогда как у всех пациентов групп промежуточного (ImRG) и высокого риска (HRG) сохранялось значительное количество (более 10^{-4}) бластных клеток. Содержание остаточных опухолевых клеток в КМ на 36-й день терапии было определено у 39 пациентов с ОЛЛ. Один ребенок из ImRG умер от септического осложнения до 36-го дня. Остаточные опухолевые клетки после проведения индукционной терапии не обнаружены более чем у половины (52,5%) больных SRG. Количество бластных клеток более 10^{-4} сохранялось у 3 (80%) пациентов ImRG. Обращает на себя внимание тот факт, что не только на 36-й день терапии, но и перед началом поддерживающей терапии (ПТ) у 9 (25,7%) пациентов SRG количество бластных клеток превышало 10^{-4} , т.е. не у всех пациентов была полностью достигнута элиминация опухолевого клона, хотя пациенты находились в состоянии клинико-гематологической ремиссии. Важной задачей является определение эффективности проводимой терапии, которая, согласно стандартам протокола ALL-MB-2002, оценивается по количеству бластных клеток в КМ на 15-й и 36-й дни терапии. Таким образом, на 15-й день терапии, у 32 (80%) был констатирован M1-статус, у 6 (15%) – M2-статус, у 2 (5%) – M3-статус КМ. Сравнение характеристики бластных клеток по данным морфологического и иммуно-фенотипического методов на 15-й день терапии показало несовпадение результатов, особенно среди пациентов с M1-статусом КМ. Так, из 32 пациентов с количеством бластных клеток в КМ менее 5% по данным морфологического исследования только у 4 (12,5%) удалось добиться ремиссии по данным определения МРБ (количество бластных клеток менее 10^{-4}). У остальных 28 (87,5%) больных количество бластных клеток превышало 10^{-4} . У 8 пациентов не была достигнута цитоморфологическая (M2 и M3-статус КМ) и молекулярная (количество бластных клеток более 10^{-4}) ремиссия. К 36-му дню у этих 7 пациентов (1 ребенок умер от септического осложнения) была получена ремиссия по данным морфологического исследования КМ. Однако особого внимания заслуживает тот факт, что только у 3 (37,5%) из 8 пациентов с M2- и M3-статусом КМ на 15-й день терапии произошла полная элиминация опухолевого клона к 36-му дню терапии (количество остаточных бластных клеток менее 10^{-4}). У оставшихся 4 пациентов (1 ребенок умер от осложнений) не удалось достичь ремиссии по данным определения МРБ, хотя цитоморфологическим методом бластные клетки не были обнаружены.

На момент анализа у 4 (11%) из 39 больных с ОЛЛ развились рецидивы, из них 3 (81,8%) больных относились к SRG, 1 (18,2%) – к ImRG. По времени возникновения ранние рецидивы выявлены у 2 из 4 или (50%) пациентов, очень ранние рецидивы развились у 1 (25%) пациента, поздние – у 1 (25%) больного.

При анализе количества бластных клеток на различных этапах ПХТ и времени возникновения и локализации рецидивов были выявлены следующие закономерности: для пациентов с очень ранними рецидивами было характерно наличие МРБ во всех 3 временных точках. У больных с ранними рецидивами сохранялся положительный результат МРБ (количество бластных клеток более 10^{-4}) как на 15-й, так и на 36-й день терапии, а перед началом ПТ остаточные опухолевые клетки отсутствовали. Однако рецидив болезни произошел в течение 6 месяцев после завершения ПТ. Описанные результаты могут указывать на то, что определение МРБ только в одной временной точке может быть недостаточным для объективного выделения группы больных ОЛЛ, имеющих высокий риск развития рецидива. Мы считаем, что дальнейшее увеличение количества клинических наблюдений и их анализ, возможно, дадут ответ на вопрос, необходим ли дополнительный контроль МРБ на более отдаленных этапах терапии для принятия решения об интенсификации ПХТ.

Заключение

Таким образом, полученные нами предварительные данные подтвердили, что SRG является гетерогенной по МРБ-статусу при наличии полной цитоморфологической ремиссии в различных временных точках оценки эффективности протокола ALL-MB-2002. При этом сохранение МРБ после проведения индукционной терапии является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении развития рецидива заболевания; определение прогностической значимости других временных точек нуждается в дальнейшем изучении. Использование МРБ в качестве маркера эффективности проводимой ПХТ позволяет оценить ранний ответ на терапию, что при условии абсолютного совпадения методов определения может служить дополнительным критерием сравнительной оценки различных способов противоопухолевого лечения.

Литература

1. Румянцева Ю.В., Карачунский А.И. Оптимизация терапии острого лимфобластного лейкоза у детей в России и Белоруссии. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии педиатрии 2007; 6(4): 13-21.